

ORGANIZACIJA I VOLUMENSKA GUSTINA KOLAGENA GINGIVE KOD OBOLELIH OD PARODONTOPATIJE

AUTORI

Marjanović D.¹, Šehalić M.¹, Kujundžić B.², Stamatović D.¹, Arsić Z.¹, Đorđević N.¹

¹ Stomatološka klinika, Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica

² Stomatološki fakultet, Univerzitet istočno Sarajevo, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

KORESPONDENT

DRAGAN MARJANOVIĆ

Medicinski fakultet, Interna klinika - Kosovska Mitrovica, Srbija

drmarjanovicdragan@gmail.com

SAŽETAK

Kolagen je glavni konstituent ekstracelularnog matriksa gingive koji presudno utiče na histoarhitektoniku gingivalnog veziva. U vezivu gingive dominira kolagen tip I, dok su u manjoj meri zastupljeni kolageni tip III, IV, i VII. U inflamiranoj gingivi dolazi do promena u organizaciji i gustini kolagena. Cilj rada je praćenje načina organizacije kolagenih vlakana u gingivi i merenje volumenske gustine (VG) kolagena u zdravoj i inflamiranoj gingivi. Materijal su činile gingivalne biopsije 96 pacijenata starosti od 13 do 70 godina. Uzorci gingive razvrstani su u četiri grupe: zdrava gingiva, gingivitis, umerena parodontopatija i uznapredovala parodontopatija. Tkivni uzorci gingive bojeni su metodom po Van Gizonu, a VG kolagena merena je pomoću mnogonamenskog tesnog sistema M42. U zdravoj gingivi snopovi kolagena su debeli i prijemčivi za boje. U gingivitisu kolagen je uglavnom očuvane strukture, ali redukovanog volumena; dok su u parodontopatiji snopovi kolagena redukovani, kratki, tanki, neorganizovani, često fragmentisani i manje prijemčivosti za boje. U zdravoj gingivi kolagena vlakna zauzimaju $58,6 \pm 5,1\%$ zapremine lamine proprije; u gingivitisu značajno manje ($44,2 \pm 6,2\%$); u umerenoj parodontopatiji ($32,7 \pm 8,5\%$) i u uznapredovalo parodontopatiji svega $28,7 \pm 9,7\%$. Na osnovu naših rezultata zaključili smo da u parodontopatiji dolazi do kolagenolize. Kvantitativna evaluacija volumenske gustine kolagena gingive može reflektovati kliničku težinu parodontopatije.

Ključne reči: kolagen, gingiva, gingivitis, parodontopatija

UVOD

Kolagen je glavni konstituent lamine proprije gingive. To je protein koji u ljudskom telu ulazi u sastav svih vezivnih tkiva [1]. Ima ga u vezivu kože, kostiju, tetivama, ligamentima, dentinu, cementu, sluzokožama širom tela, kao i u svim unutrašnjim organima kojima obezbeđuje strukturni integritet [2]. Zbog široke distribucije, kolagen je najzastupljeniji protein kod sisara i na njega otpada 25-30% celokupnog proteinskog sadržaja ljudskog organizma [3]. Kolagen pripada porodici vlaknastih proteina koje u najvećoj meri luče fibroblasti, ali i druge ćelije sa strukturnom ulogom (hondroblasti, osteoblasti, odontoblasti). Do sada je identifikovano oko 30 različitih tipova kolagena, koji se mogu svrstati u nekoliko grupa: a) vlaknasti kolageni, koji učestvuju u izgradnji kolagenih vlakana (npr. kolagen tip I, II i III); b) kolageni udruženi sa kolagenim vlaknima (tzv. FACIT kolageni, kao što su kolageni tip IX, XII i XIV); c) kolageni koji formiraju mrežaste strukture (npr. kolageni tip IV, VIII i X) i d) usidravajući kolageni, gde sapsadaju kolageni tip VI ili VII) [4]. U vezivu gingive dominira kolagen tip I, koji formira kolagena vlakna udružena u snopove, dok su u manjoj meri zastupljeni kolagen tip III u formi retikularnih vlakna, zatim kolagen tip IV, kao komponenta bazalne lamine, i kolagen tip VII, koji gradi usidravajuće filamente. Gingivalni kolagen sintetišu isključivo fibro-

blasti. Na klasičnom hematoksilin-eozinom (HE) bojenju kolagen ispoljava eozinofiliju i boji se ružičasto, dok se na Masonovom trihromnom bojenju kolagen boji zeleno [5].

Molekul kolagena ili tropokolagena ima dužinu oko 300 nm i prečnik oko 1,5 nm. Sastoji se iz tri polipeptidna lanca, označena kao α -lanci, koji se međusobno prepliću formirajući desnogiri heliks [6]. Svaki od polipeptidnih lanaca sadrži oko 1000 aminokiselinskih rezidua, među kojima je najzastupljenija aminokiselina glicin (oko 33% svih aminokiselina), a zatim prolin (oko 12%) i hidroksi-prolin (oko 10%). Dve karakteristične aminokiseline za kolagen su hidroksi-prolin i hidroksi-lizin i na osnovu njihove koncentracije u mokraći može se proceniti intenzitet razgradnje kolagena u telu [7].

Degradacija molekula kolagena dešava se kod različitih bolesti, ali i u fiziološkim uslovima u cilju očuvanja tkivne homeostaze. Kolagenolizu vrše specijalizovani enzimi kolagenaze koji pripadaju familiji enzima koji se zovu matrične metaloproteinaze [8]. Kolagenaze deluju tako što na amino-terminalu molekula kolagena cepaju sva tri polipeptidna lanca koji potom gube heliksnu strukturu i podležu katalizi pod uticajem ekstracelularnih proteaza (npr. stromelizin, želatinaze) ili bivaju uvučeni u citoplazmu fagocita i tu degradirani pod dejstvom intracelularnih enzima [5].

Centralno pitanje, vezano za sadržaj kolagena u zdravoj i inflamiranoj gingivi, odnosi se na biološke iz-

vore i mehanizme uključene u lizu kolagena. Neosporno je da destrukciji gingivalnog kolagena mogu doprineti enzimi i drugi bakterijski produkti dentalnog plaka [9]. Međutim, verovatno još veći značaj u kolagenolizi imaju same vezivnotkivne ćelije, kao permanentni izvor enzima i inflamatornih molekula koji podstiču ili direktno razgrađuju potporni aparat zuba. Degradacija ekstracelularnog matriksa može biti posledica disbalansa u produkciji supstanci poput hemokina i proteaza, kao i njihovih aktivatora i inhibitora, od strane rezidentnih i migratornih inflamatornih ćelija [10].

CILJ RADA

Cilj rada je praćenje načina organizacije kolagenih vlakana u gingivi i merenje volumenske gustine (VG) kolagena u zdravoj i inflamiranoj gingivi.

MATERIJAL I METODE

Materijal su činile gingivalne biopsije 96 pacijenta starosti između 13 i 70 godina. Biopsije su uzimane pri ekstrakciji zuba iz ortodontskih razloga ili usled parodontopatije. Pacijenti uključeni u studiju nisu patili od sistemskih oboljenja. Pre uzimanja biopsije vršen je detaljan klinički pregled potpornog aparata zuba. Za procenu kliničkog stadijuma bolesti korišćeni su sledeći indeksi: CPITN (Community parodontal index of treatment needs), Loe-Silness gingivalni indeks, Mühlemann-Sulcus Bleeding indeks, Silness-Loe plak indeks. Dubina parodontalnog džepa merena je sondom sa kuglicom. Uzorci gingive razvrstani su u 4 osnovne grupe:

1. zdrava gingiva (11 uzoraka kod osoba čija gingiva nije ispoljavala znakove krvarenja, otoka ili zapaljenja, a gingivalni žleb je uobičajene dubine)

2. gingivitis (18 tkivnih uzoraka od pacijenata kod kojih je zapaženo crvenilo, otok i krvarenje gingive, a Loe-Silness gingivalni indeks iznosio je 2 ili 3)

3. umerena parodontopatija (36 uzoraka kod pacijenata sa dubinom parodontalnog džepa ispod 6 mm)

4. izražena ili uznapredovala parodontopatija (31 uzorak kod pacijenata sa dubinom parodontalnog džepa iznad 6 mm).

Tkivni iseći fiksirani su u 10% formalinu, dehidratirani u rastućim koncentracijama alkohola, prosvetljeni u ksilolu i kalupljeni u parafinu. Od parafinskih blokova pravljani su serijski preseki debljine 5 μ m na klizećem Reichertovom mikrotomu. Za opšti uvid u histološku strukturu gingive korišćeni su iseći bojeni rutinskom histološkom tehnikom hematoksilin-eozinom [11]. Volumenska gustina (VG) kolagena je merena pomoću mnogonamenskog testnog sistema M42, proizvedenog u Elektronskoj industriji Niš. VG je određivana po formuli $Vvf = Pf/Pt$, pri čemu je Vvf - volumenska gustina proučavane faze, Pf - broj tačaka testnog sistema koje padaju na proučavanu fazu, a Pt - broj tačaka (42) testnog sistema. Dobijena vrednost volumenske gustine je množena brojem 100 da bi se rezultat izrazio u procentima. Materijal koji je korišćen za merenje VG kolagena činili su uzorci bojeni metodom po Van-Giesonu.

REZULTATI

Za detekciju makrofaga korišćena su anti-68 monoklonska antitela. U zdravoj gingivi zapaljenjske

ćelije su inače malobrojne, a makrofagi su rasejani po čitavom vezivu i po pravilu se javljaju kao pojedinačne ćelije. CD68+ ćelije se nešto češće zatiču u gingivalnim papilama i perivaskularnim prostorima (slika 1), a naročito u infiltratima uz pripojni epitel, gde se mogu naći i u manjim grupicama od po dve do pet ćelija. Takođe, makrofagi se neretko viđaju u neposrednom kontaktu sa epitelnom bazalnom laminom ili među snopovima kolagenih vlakana.

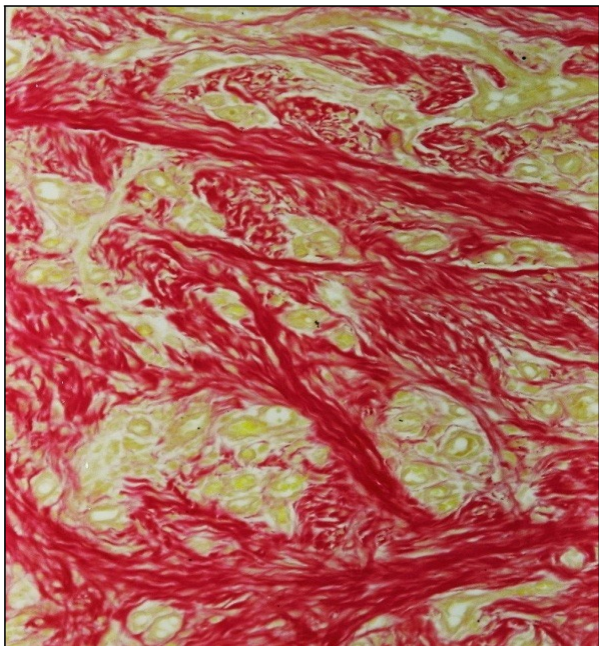


Slika 1. Debeli, vijugavi snopovi kolagena, usmereni u različitim pravcima, zauzimaju najveći deo volumena zdrave gingive. Van-Gieson, 400X

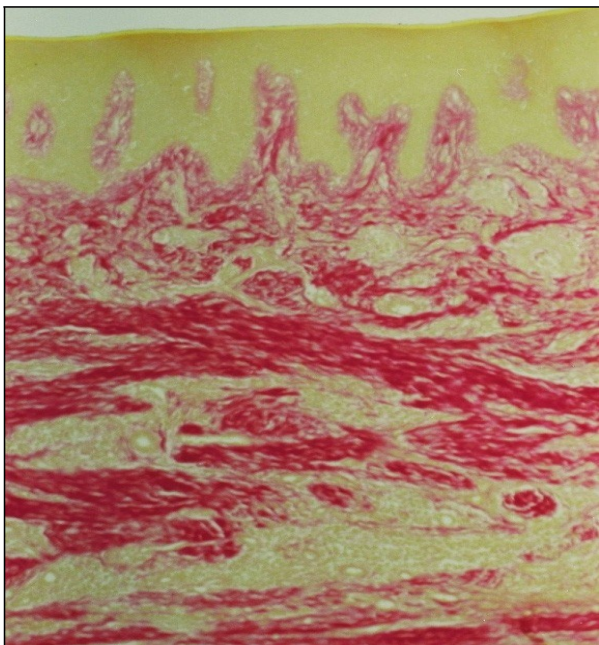
Za identifikaciju kolagena korišćena je histohemijska metoda po Van-Giesonu kojom se kolagen boji crveno, dok su ostale vezivnotkivne strukture i epitel obojeni žuto. Pri analizi tkivnih uzoraka praćena je prijemčivost kolagena za boje, način organizacije kolagenih snopova, njihova gustina, dužina, debljina, vijugavost i volumenska gustina. Na preparatima zdrave gingive prisutni su snopovi kolagenih vlakana, usmereni u različitim pravcima tako da se vide na uzdužnom, poprečnom ili kosom rezu. Snopovi kolagena su jako prijemčivi za boje i pokazuju uzdužnu ispruganost. U retikularnom sloju gingive snopovi su debeli i često vijugavi, dok su u papilama uzani, rastresitiji i usmereni uglavnom prema površini epitela, pri čemu se od njih često odvajaju kratka vlakna koja uranjaju u bazalnu laminu. Između kolagenih snopova nalaze se krvni sudovi i perivaskularni prostori prijemčivi za žutu boju (Sl.1). Utisak je da je papilarni podsloj slabije zaposednut kolagenom, što se može objasniti boljom prokrvljenošću i većim sadržajem osnovne supstance.

Kod gingivitisa kolagen je uglavnom očuvane strukture, ali redukovano volumena usled prisustva brojnih krvnih sudova i limfocitnih infiltrata u njihovoj okolini (Sl. 2). U pojedinim regijama gingive snopovi kolagena mogu biti izrazito debeli i prijemčivi za boje, dok su u drugim delovima snopovi tanki, vijugavi, mestimično fragmentovani i manje prijemčivi za boju. U perivaskularnim prostorima kolageni snopovi su odsutni ili tanji,

verovatno usled kompresije ili lize kolagena. Kolagen koji pruža potporu vezivnim papilama ni po strukturi ni po količini se ne razlikuje od istog u zdravoj gingivi.



Slika 2. Debeli, dužacki i izukršteni snopovi kolagena odvojeni relativno širokim i konfluentnim perivaskularnim prostorima. Između pojedinih snopova primetan edem. Gingivitis, Van-Gieson, 200X

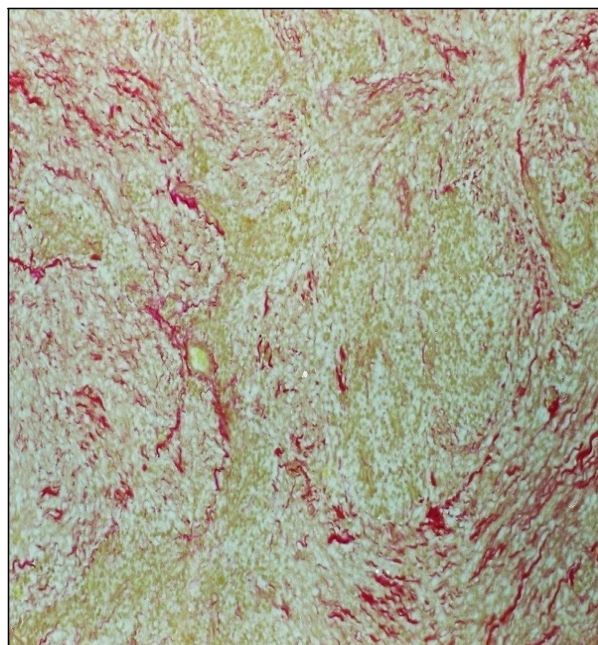


Slika 3. Kolagen redukovano, neujednačene prijemčivosti za boje, u konfluentnim perivaskularnim i zapaljenjskim prostorima delimično ili potpuno odsutan. Uznapredovala parodontopatija, Van-Gieson, 100X

U parodontopatiji kolagen je u osnovi jako redukovano, ali mu količina i način organizacije umnogome variraju zavisno od aktivnosti zapaljenjskog procesa. Generalno, količina kolagena je u obrnutoj proporciji sa

intenzitetom zapaljenjskog procesa, odnosno volumenu koji zauzimaju ćelijski infiltrati. U osnovi, snopovi kolagena okružuju perivaskularne prostore i zapaljenjska ognjišta ukoliko su ona solitarna i manjeg opsega. Ukoliko zapaljenjska ognjišta pokazuju tendenciju stapanja, onda kolagen postepeno iščezava ne samo unutar ognjišta, već i oko njih. Na većini preparata snopovi kolagena zaposedaju samo pojedine delove lamine proprije i ti snopovi su obično talasasti, razmaknuti edemom i prijemčivi za boju (Sl. 3).

U perivaskularno-zapaljenjskim prostorima snopovi kolagena su kratki, tanki, neorganizovani i fragmentisani, a često se zapažaju ostaci kolagena u vidu zrnastog materijala. Na preparatima kod kojih se registruju konfluentna zapaljenjska žarišta na mestima gde se žarišta stapaju primećuju se snopovi kolagena svedeni na uzane trake ili mrežaste strukture (Sl. 4). Uzani kolageni snopovi pokazuju snižen afinitet za boju što ukazuje da su zahvaćeni procesom kolagenolize. U pojedinim žarištima zapaža se potpuno odsustvo kolagena (Sl. 4). Kolagen u papilama ne ispoljava tako naglašene promene kao u retikularnom sloju, ali je često redukovano i još češće pokazuje snižen afinitet prema bojama.



Slika 4. Tanki i kratki kolageni snopovi, razmaknuti edemom i zapaljenjskim ćelijama, zauzimaju izrazitomalu površinu unutar i između zapaljenjskih infiltrata. Uznapredovala parodontopatija, Van-Gieson, 100X

Stereološkim istraživanjem i statističkom obradom podataka nađeno je da srednja vrednost volumenske gustine (VG) kolagena u zdravoj gingivi iznosi $58,6 \pm 5,1\%$ (Grafikon 1). Kod gingivitisa VG kolagena iznosi $44,2 \pm 6,2\%$, što je signifikantno niža vrednost u odnosu na zdravu gingivu. Dalje, VG kolagena u početnoj parodontopatiji ima vrednost $32,7 \pm 8,5\%$, a u uznapredovaloj parodontopatiji $28,7 \pm 9,7\%$. VG kolagena u zdravoj gingivi je značajno veća u odnosu na ostale ispitivane grupe ($p < 0,001$). Takođe, značajna je razlika u gustini kolagena između gingivitisa i oba oblika parodontopatije ($p < 0,05$). Razlike u VG kolagena između početne i uznapredovale parodontopatije nisu signifikantne. Kod oba oblika paro-

dontopatije primetna je visoka vrednost standardne devijacije, što ukazuje da su uzorci heterogeni, odnosno da je količina kolagena jako varijabilna i zavisna od intenziteta zapaljenjskog procesa.

DISKUSIJA

Kolagen je glavni konstituent ekstracelularnog matriksa gingive koji presudno utiče na histoarhitektoniku gingivalnog veziva. Na prepapatima zdrave gingive snopovi kolagena su debeli, vijugavi, prijemčivi za boje. U gingivitisu kolagen je uglavnom očuvane strukture, ali redukovano volumena, dok su u parodontopatiji snopovi kolagena redukovani, kratki, tanki, neorganizovani, često fragmentisani i slabije prijemčivosti za boje.

Rezultati našeg ispitivanja pokazuju da u zdravoj gingivi kolagena vlakna zauzimaju $58,6 \pm 5,1\%$ zapremine lamine proprie, u gingivitisu značajno manje ($44,2 \pm 6,2\%$), u umerenoj (početnoj) parodontopatiji još manje ($32,7 \pm 8,5\%$) i u uznapredovaloj parodontopatiji svega $28,7 \pm 9,7\%$. Razlike u sadržaju kolagenih vlakana u različitim ispitivanim grupama statistički su značajne, izuzev početne (umerene) i uznapredovale parodontopatije, gde razlika nije signifikantna. U ove dve istraživane grupe zabeležena je visoka vrednost standardne devijacije, što ukazuje da proces kolagenolize može biti u mirnoj i aktivnoj fazi. U mirnoj fazi parodontopatije, nezavisno od stepena progresije bolesti, na mestu nekadašnjih zapaljenjskih infiltrata zapazili smo akumulacije fibroblasta sa depozitima kolagena, što je dokaz da u mirnoj fazi bolesti može doći do delimičnog „oporavka“, odnosno sinteze kolagena, kojom se, u izvesnoj meri, može nadomestiti gubitak kolagena nastao u aktivnoj fazi parodontopatije. Slična zapažanja izneli su Lorencini i sar. [9] koji novostvorena kolagena vlakna smatraju kompaktnijim u odnosu na snopove kod zdrave gingive. Reparaciju kolagena u parodontopatiji, koja se odvija simultano sa degradacijom kolagena, pomenuti autori nazivaju „frustrirajućom reparacijom“, smatrajući da nova konfiguracija kolagenih snopova može više doprineti progresiji bolesti, nego regresiji. Dakle, izvesno je da kako infekcija napreduje, tako se kolagen u sve većoj meri „topi“, s tim da fibroblasti nastoje da nadoknade taj gubitak, dovodeći do žarišne fibroze. Pri tumačenju vrednosti VG kolagena treba uzeti u obzir i činjenicu da je infekcija uvek praćena edemom zahvaćenog tkiva, što u značajnoj meri može umanjiti vrednost VG kolagena. Zapravo, može se pretpostaviti da apsolutna količina kolagena nije u tolikoj meri smanjena kao njegova zapreminska gustina.

Rezultate slične našim su publikovali Younes i sar. [12]. Oni su na humanom materijalu pratili iste grupe pacijenata (zdrava gingiva, gingivitis, umerena i uznapredovala parodontopatija) i notirali značajan pad sadržaja kolagena tokom napredovanja bolesti. U njihovom istraživanju VG kolagena iznosila je $54,1 \pm 6,2\%$ kod pacijenata sa zdravom gingivom, $38,5 \pm 6,6\%$ u grupi sa gingivitisom, $31,8 \pm 6,5\%$ u grupi sa umerenom parodontopatijom i $25,4 \pm 5,6\%$ kod pacijenata sa teškim oblikom parodontopatije. Nešto ranije Ejeil i sar. [13] došli su do podataka da srednja vrednost VG kolagenih vlakana u pomenutim studijskim grupama iznosi 53%, 41%, 39,5% i 35%, što su vrednosti slične onim u našem istraživanju. Još ranije, slično istraživanje obavili su Seguiet i sar. [14]. Oni su merili VG kolagenih vlakana u trima ispitivanim grupama (pacijenti sa zdravom gingivom, gingiviti-

som i parodontopatijom) i došli do saznanja da srednje vrednosti VG kolagenih vlakana u pomenutim grupama iznose redom 63%, 46% i 26% i da se međusobno značajno razlikuju. Na osnovu svih pomenutih istraživanja, čiji su rezultati u potpunoj saglasnosti, može se izvesti zaključak da kvantitativna evaluacija VG kolagenih vlakana gingive može reflektovati kliničku težinu parodontopatije.

Seguiet i sar. [14] ustanovili su da je stepen destrukcije kolagena u tesnoj vezi sa brojem inflamatornih ćelija u vezivu gingive, na osnovu čega zaključuju da su citotoksične efektorne ćelije najodgovornije za kolagenolizu. Ejeil i sar. [13] destrukciju kolagena dovode u vezu sa produkcijom odgovarajućih citokina. Naime, oni su ustanovili da je količina kolagena u direktnoj proporciji sa koncentracijom IL-4 i transformišućeg faktora rasta-beta (TGF- β), a da inverzno koreliše sa koncentracijom IL-1 β , IL-6 i faktorom nekroze tumora-alfa (TNF- α), pri čemu se koncentracija epitelnog faktora rasta (EGF) u inflamiranom tkivu gingive ne menja i ne utiče na kolagenolizu. Na osnovu toga pomenuti autori su konstatovali da se kod aktivne parodontopatije IL-4 i TGF- β mogu koristiti kao klinički markeri težine bolesti. Dalje, Seguiet i sar. [15] sugerisali su da količina kolagena koreliše sa brojem inflamatornih ćelija i produkcijom matriksnih metaloproteinaza (MMPs) i tkivnih inhibitora matriksnih metaloproteinaza (TIMPs). Oni su utvrdili da se disbalans između MMPs i TIMPs može povezati sa patološkom razgradnjom ekstracelularnog matriksa tokom parodontopatije. Shodno dobijenim rezultatima, autori predlažu da se aktivna forma matriksne metaloproteinaze-9 može koristiti kao marker kliničke težine bolesti. Pojačana kolagenoliza može se dovesti u vezu i sa povećanim brojem plazmocita [16]. Hirsch i sar. [17] otkrili su prisustvo velikog broja plazmocita koji sekretuju antitela protiv kolagena tip I i manji broj ćelija koje luče antitela za kolagen tip III. Pomenuta antitela su imunoglobulini klase IgG, IgA i IgM. Ovaj nalaz upućuje na poremećaj imunološke tolerancije, odnosno ukazuje da su u patogenezu parodontopatije uključeni i autoimuni mehanizmi.

ZAKLJUČAK

U našem istraživanju ustanovili smo da na prepapatima zdrave gingive snopovi kolagena su debeli, vijugavi, zbijeni i prijemčivi za boje. U gingivitisu kolagen je uglavnom očuvane strukture, ali redukovano volumena, dok su u parodontopatiji snopovi kolagena redukovani, kratki, tanki, neorganizovani, često fragmentisani i manje prijemčivosti za boje. Na osnovu opšte organizacije, orijentacije i debljine kolagenih snopova u vezivu gingive može se zaključiti da se u parodontopatiji, uporedo sa kolagenolizom, odvija reparacija kolagena. Volumenska gustina kolagenih vlakana najviša je u zdravoj gingivi, značajno niža u gingivitisu, još niža u umerenoj parodontopatiji, a najniža u uznapredovaloj parodontopatiji. Kvantitativna evaluacija volumenske gustine kolagenih vlakana gingive može reflektovati kliničku težinu parodontopatije. Stepent degradacije kolagena u vezivu gingive proporcionalan je gustini inflamatornih ćelija.

LITERATURA

1. Miller EJ, Gay S. The collagens: An overview and update. *Methods Enzymol.* 1987; 144:3-41.
2. Van der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J.* 1991; 5:2814-23.
3. Di Lullo GA, Sweeney SM, Korkko J, Ala-Kokko L, San Antonio JD. Mapping the Ligand-binding Sites and Disease-associated Mutations on the Most Abundant Protein in the Human, Type I Collagen. *J Biol Chem.* 2002; 8:277(6):4223-31.
4. Bumbaširević V, Lačković V, Miličević NM, Miličević Ž, Mujović S i et al. *Histologija, Medicinski fakultet, Beograd*, 2005.
5. Kujundžić B. Morfometrijska analiza kolagena i ćelija sa kolagenolitičkim potencijalom u zdravoj i inflamiranoj gingivi. Magistarski rad, Istočno Sarajevo, 2012.
6. Ros MH, Pawlina W. *Histology - A Text and Atlas.* Williams & Wilkins, Baltimore-Philadelphia, 2006.
7. Anđelković Z, Somer Lj, Avramović V, Milosavljević Z, Tanasković i et al. *Histologija, Impressum, Niš*, 2009.
8. Gross J, Harper E, Harris ED. Animal collagenases: Specificity of action, and structures of the substrate cleavage site. *Biochem Biophys Res Commun.* 1974; 61:605-12.
9. Lorencini M, Silva JA, Almeida CA, Bruni-Cardoso A, Carvalho HF et al. A new paradigm in the periodontal disease progression: gingival connective tissue remodeling with simultaneous collagen degradation and fibers thickening. *Tissue Cell.* 2009; 41(1):43-50.
10. Garlet GP, Cardoso CR, Campanelli AP, Martins W, Silva JS. Expression of suppressors of cytokine signaling in diseased periodontal tissues: a stop signal for disease progression? *J Periodontol Res.* 2006; 41(6):580-84.
11. Tasić V. *Osnovne histohemijske metode u patohistologiji.* Lela, Beograd, 1994.
12. Younes R, Ghorra C, Khalife S, Igondjo-Tchen-Changotade S, Yousfi M et al. Pertinent cell population to characterize periodontal disease. *Tissue and Cell.* 2009; 41:141-50.
13. Ejeil AL, Gaultier F, Igondjo-Tchen S, Senni K, Pellat B et al. *J Periodontol.* 2003; 74(2):196-201.
14. Séguier S, Godeau G, Brousse N. Collagen fibers and inflammatory cells in healthy and diseased human gingival tissues: a comparative and quantitative study by immunohistochemistry and automated image analysis. *J Periodontol.* 2000; 71(7):1079-85.
15. Séguier S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? *J Periodontol.* 2001; 72(10):1398-1406.
16. Joachim F, Sati K, Barber P, Newman HN, Osborn J. Aspects of distribution of plasma cells at the advancing front of the lesion in chronic periodontitis: a quantitative ultrastructural study. *J Periodontol.* 1989; 8(3):229-48.
17. Hirsch HZ, Tarkowski A, Miller EJ, Gay S, Koopman WJ et al. Autoimmunity to collagen in adult parodontal disease. *J Oral Pathol.* 1988; 17(9-10):456-59.

ENGLISH

ORGANIZATION AND COLLAGEN VOLUME DENSITY OF THE GINGIVA IN THE PATIENTS WITH PERIODONTITIS

Marjanović D.¹, Šehalić M.¹, Kujundžić B.², Stamatović D.¹, Arsić Z.¹, Đorđević N.¹

¹ Dental Clinic, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

² Faculty of Dentistry, University of East Sarajevo, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

SUMMARY

Collagen is a major constituent of the gingival extracellular matrix, which crucially affects the histoarchitecture of the gingival tissue. Collagen type I dominates the gingival tissue, while type II, III and IV are present to a lesser extent. Changes in distribution and density occur in the inflamed gingiva. The aim of the study was to examine the organization and density of the collagen in healthy and inflamed gingiva. The material for the study consisted of the gingival biopsies performed in 96 patients aged from 13 to 70 years. The gingival specimens were classified into 4 groups: healthy gingiva, gingivitis, moderate periodontal disease and severe periodontal disease. The samples of the gingival tissues were stained by the method of Van Gieson's Stain, while the VD of the collagen was measured by the use of multipurpose testing system M42. In healthy gingival collagen are thick and receptive to color. In gingivitis collagen is mostly preserved structure, but reduced volume; in the periodontitis collagen bundles are reduced, short, thin, disorganized, often fragmented and less susceptibility to color. In healthy gingiva collagen fibers occupy $58.6 \pm 5.1\%$ of the volume of lamina propria; in gingivitis significantly lower ($44.2 \pm 6.2\%$); in moderate periodontitis $32.7 \pm 8.5\%$ and in the progressed periodontitis only $28.7 \pm 9.7\%$. Based on our results, we concluded that in periodontal disease occurs collagenolysis. Quantitative evaluation of gingival collagen volume density may reflect the clinical severity of periodontal disease.

Key words: gingiva, collagen, gingivitis, periodontal disease